



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Genética y Biotecnología

**Asociación entre el SNP sinónimo RS3749166 del gen
CAPN10 y la diabetes mellitus tipo 2 en una muestra
peruana**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Biólogo Genetista
Biotecnólogo**

AUTOR

Enrique Eduardo SÁNCHEZ CASTRO

ASESOR

Dra. Mónica Yolanda PAREDES ANAYA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Sánchez, E. (2019). *Asociación entre el SNP sinónimo RS3749166 del gen CAPN10 y la diabetes mellitus tipo 2 en una muestra peruana*. Tesis para optar el título profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo. Escuela Profesional de Genética y Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor: <https://orcid.org/0000-0002-2319-5192>

Código ORCID del asesor: <https://orcid.org/0000-0002-9038-2270>

DNI del autor: 76099024

Grupo de investigación: Genética de Enfermedades Metabólicas (GENMETAB)

Institución que financia parcial o totalmente la investigación: Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú) del Ministerio de la Producción.

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y/o coordenadas geográficas: Lima, Perú. En el Laboratorio de Genética de Enfermedades Metabólicas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Año o rango de años que la investigación abarcó: 2018-2019



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO GENETISTA BIOTECNÓLOGO
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)**

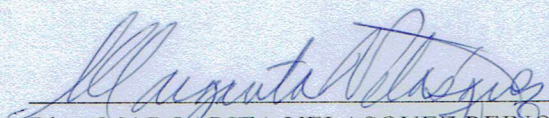
Siendo las 12:00 horas del 14 de octubre de 2019, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al **Título Profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo** de **ENRIQUE EDUARDO SÁNCHEZ CASTRO**.

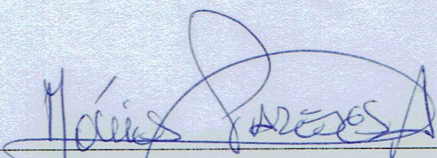
Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° 015-EPGB-2019, el titulando expuso su tesis: **"ASOCIACIÓN ENTRE EL SNP SINÓNIMO rs3749166 DEL GEN CAPN10 Y LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN UNA MUESTRA PERUANA"** y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 18, calificativo: Aprobado con mención honorosa

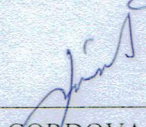
Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Genética y Biotecnología, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo** a **ENRIQUE EDUARDO SÁNCHEZ CASTRO** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 13:15 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 14 de octubre de 2019.


Blga. MARGARITA VELASQUEZ REINOSO
(PRESIDENTA)


Dra. MONICA PAREDES ANAYA
(ASESORA)


Blgo. JESUS CORDOVA SANTA GADEA
(MIEMBRO)


Blgo. JORGE ZEBALLOS ALVA
(MIEMBRO)

Dedicatoria

A los temores que se alimentan de todos nosotros,
porque sus días están contados.

Siempre lo estuvieron.

Agradecimientos

A mi familia y amigos quienes me han mostrado que podemos aprender, resistir y afrontar.

¡Que se puede celebrar!

Ma y pa, gracias por haberme moldeado, sea con errores o con aciertos, ¡le dieron un científico al mundo! También muchísimas gracias a mi Titina y a mi abuela, siempre han cumplido roles vitales en mi vida.

Gracias al Dr. Luis More quien no solo me salvó la vida, sino que siempre me ha impulsado a superarme y de quien he aprendido invaluable enseñanzas. Asimismo, al servicio de Endocrinología en el Hospital Santa Rosa, el cual siempre me recibió con cariño durante mis visitas y rotaciones.

Quiero agradecer al Dr. Bernat Soria y al PhD. Juan Tejedo por haberme brindado la oportunidad de realizar una pasantía de investigación en el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa en Sevilla, han sido motivo de inspiración y guía. Mis expresas gracias también al equipo MR2, Ana Hitos, Irene Díaz y Fátima Postigo, con quienes compartí cientos de risas y de quienes aprendí incontables destrezas.

Al laboratorio de Genética de Enfermedades Metabólicas, lugar donde realicé la presente investigación. A la PhD. Mónica Paredes y al PhD. Wilser García quienes siempre me dieron la confianza para compartir mis ideas y desarrollarme en el ámbito científico. También agradecerle a Carla Bernal por haberme enseñado lo básico cuando llegué al laboratorio hace ya años y por cada conversación tan amena que hemos tenido.

Finalmente agradecerles a personas importantes para mí, como a Lidia Llacsahuanga y a Javier Avalo, entre muchos otros, quienes de manera indirecta tantas veces me apoyaron para seguir adelante.

¡Gracias a todos!

Fuente de Financiamiento

La presente investigación fue financiada por el Programa INNOVATE-PERÚ, proyecto 401-PNICE-PIAP-2014: "Desarrollo de un kit diagnóstico preventivo para diabetes tipo 2 en la población peruana" ganado por el Laboratorio de Genética de Enfermedades Metabólicas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AIC: Criterio de información de Akaike (por sus siglas en inglés “Akaike information criterion”).

ARN: Ácido ribonucleico.

CA: Circunferencia abdominal.

CAPN10: Gen calpaína 10

CAPN10: Proteína calpaína 10

cDNA: ADN complementario.

CI: Intervalos de confianza (por sus siglas en inglés “confidence intervals”) del 95%.

DE: Desviación estándar.

DT2: Diabetes mellitus tipo 2

EHW: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

GLUT4: Transportador de glucosa tipo 4

HbA1c: Hemoglobina glicada.

HDL: Colesterol de alta densidad.

HRM: Análisis de alta resolución de fusión (por sus siglas en inglés “high resolution melting”)

IDT: Integrated DNA Technologies ®.

LDL: Colesterol de baja densidad.

MAF: Frecuencia del alelo menos común (por sus siglas en inglés “minor allele frequency”).

MDP: Métodos diagnóstico-preventivos

miRNAs: Micro ARNs.

MODY: Diabetes de la edad madura que se presenta en el joven (por sus siglas en inglés “maturity onset diabetes of the young”).

NIDDM1: Nombre de la primera región asociada a la DT2 (por sus siglas en inglés “non insulin dependent diabetes mellitus 1”).

OR: Proporción de probabilidades (por sus siglas en inglés “odds ratio”)

PAD: Presión arterial diastólica.

PAS: Presión arterial sistólica.

pb: Pares de bases nucleotídicas.

PEL: Peruanos de Lima.

q1: Primer cuartil.

q3: Tercer cuartil.

qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (por sus siglas en inglés “quantitative polymerase chain reaction”).

SNP: Polimorfismo de un único nucleótido (por sus siglas en inglés “single nucleotide polymorphism”)

TC: Colesterol total.

TG: Triglicéridos.

VLDL: Colesterol de muy baja densidad.

ΔG : Energía libre de Gibbs.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	4
	2.1. La diabetes.....	4
	2.2. Métodos diagnóstico-preventivos.....	7
	2.3. Gen calpaína 10 (CAPN10)	9
	2.4. SNP sinónimo rs3749166.....	11
III.	HIPÓTESIS.....	12
	3.1. Hipótesis nula.....	12
	3.2. Hipótesis alternativa.....	12
IV.	OBJETIVOS.....	13
	4.1. Objetivo general.....	13
	4.2. Objetivos específicos.....	13
V.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
	5.1. Material biológico.....	14
	5.2. Diseño de cebadores.....	15
	5.3. Genotipificación.....	16
	5.4. Análisis estadístico.....	17
VI.	RESULTADOS.....	20
	6.1. Análisis estadístico de las variables estudiadas.....	20
	6.2. Frecuencias alélicas.....	20
	6.3. Frecuencias genotípicas.....	22
	6.4. Análisis de asociación alélica y genotípica.....	24
VII.	DISCUSIÓN.....	27

VIII. CONCLUSIONES.....	31
IX. RECOMENDACIONES.....	32
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Componentes y cantidades de la mezcla maestra para qPCR.....	16
Tabla 2. Condiciones del termociclador para la qPCR y HRM.....	17
Tabla 3. Prueba de normalidad Shapiro-Wilks de las variables.....	18
Tabla 4. Modelos de herencia.....	19
Tabla 5. Descripción de variables categóricas y continuas.....	21
Tabla 6. Frecuencias alélicas del SNP rs3749166.....	21
Figura 1. Genotipos heterocigotos visualizados en la curva derivativa de fusión.....	22
Figura 2. Genotipos homocigotos visualizados en la curva derivativa de fusión.....	23
Tabla 7. Frecuencias genotípicas del SNP rs3749166.....	23
Tabla 8. Prueba exacta del equilibrio Hardy-Weinberg para el SNP rs3749166.....	24
Tabla 9. Pruebas de asociación en crudo entre el SNP rs3749166 y la DT2.....	25
Tabla 10. Pruebas de asociación según ajuste 1 entre el SNP rs3749166 y la DT2.....	25
Tabla 11. Pruebas de asociación según ajuste 2 entre el SNP rs3749166 y la DT2.....	26

RESUMEN

La diabetes tipo 2 es un problema de salud importante en todo el mundo. A pesar de ello, todavía existen deficiencias en su diagnóstico. La genética ha demostrado ser capaz de ayudar a resolver este problema; sin embargo, existe un escaso número de estudios genéticos de la población peruana publicados. Polimorfismos en el gen *CAPN10* se han asociado con la enfermedad; más aún, el SNP sinónimo rs3749166 muestra una connotación funcional que lo convierte en un marcador ideal con un gran potencial para proporcionar valiosa información para el desarrollo de un kit de diagnóstico preventivo de diabetes tipo 2. El objetivo de esta investigación fue estudiar la asociación del SNP rs3749166 con la diabetes tipo 2 en una muestra peruana. Este estudio incluyó a 264 individuos (67 pacientes diagnosticados con diabetes tipo 2 y 197 controles). Se identificaron los genotipos mediante la técnica de análisis de alta resolución de fusión. Para determinar las asociaciones de genotipos con la diabetes tipo 2, utilizamos las proporciones de probabilidades de los modelos de regresión logística ajustados y en crudo. Se encontró 2 alelos (A>G) con frecuencias similares. La frecuencia del alelo menos común fue de 0.44 y 0.43 para el grupo control y paciente, respectivamente. También se encontraron 3 genotipos (A/G > A/A > G/G), en equilibrio de Hardy-Weinberg, en ambos grupos; sin embargo, el rs3749166 no mostró ninguna asociación significativa con la diabetes tipo 2, ya sea en los modelos en crudo o ajustado. En conclusión, el SNP rs3749166 no está asociado con la diabetes tipo 2 en la muestra estudiada. Por lo revisado, tal parece que este trabajo sería el primero que ha estudiado la asociación entre rs3749166 con diabetes tipo 2 en una muestra peruana. Se espera que esta investigación proporcione información valiosa acerca del componente genético de esta enfermedad en la población peruana, mediante la muestra de Lima acá estudiada.

Palabras clave: diabetes mellitus tipo 2, SNP sinónimo, calpaína 10, población peruana.

ABSTRACT

Type 2 diabetes is a major health issue worldwide. Nevertheless, we still have deficiencies in its diagnosis. Genetics have shown its worth helping to solve this problem, however, almost no genetic study has been conducted in Peru. Polymorphisms in the *CAPN10* gene have been associated with the disease; furthermore, the synonymous SNP rs3749166 shows a functional connotation which makes it an ideal marker with great potential to provide valuable information for the development of a preventive-diagnostic kit of type 2 diabetes. The aim of this thesis was to investigate the association of the synonymous SNP rs3749166 in the *CAPN10* gene with type 2 diabetes in a Peruvian sample. This study included 264 individuals (67 patients diagnosed with type 2 diabetes and 197 controls). We obtained the genotypes by High-Resolution Melting. To determine genotypes associations with type 2 diabetes, we used odds ratios from crude and adjusted logistic regression models. It was found 2 alleles (A > G) with similar frequencies. The minor allele frequency was 0.44 and 0.43 for the control and patient group, respectively. It was also found 3 genotypes (A/G > A/A > G/G), in Hardy-Weinberg equilibrium, in both groups. However, the rs3749166 did not show any significant association with type 2 diabetes, either in crude or in adjusted models. In conclusion, rs3749166 is not associated with type 2 diabetes in the studied sample. To my knowledge, this study is the first that has studied the association between rs3749166 with type 2 diabetes in a Peruvian sample. It is expected that this thesis provides valuable information of the genetic component of this disease in the Peruvian population, through the studied sample of Lima.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, synonymous SNP, calpain 10, Peruvian population.

I. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DT2) es una enfermedad metabólica considerada actualmente una pandemia global (International Diabetes Federation, 2017). De hecho, la diabetes es considerada la séptima principal causa de muerte alrededor del mundo, con 1.6 millones de muertes directamente atribuidas a esta enfermedad solo en el 2016 (World Health Organization, 2018). Además, la DT2 está asociada con comorbilidades físicas (Gregg et al. 2000) y mentales (Ducat et al., 2014) que afectan la calidad de vida de los pacientes (Adriaanse et al. 2016). Un hecho notable es que aún a pesar de la gran relevancia de esta enfermedad actualmente, aproximadamente el 50 % de las personas afectadas carecen del diagnóstico de DT2 (Beagley et al. 2014). Esto último agrava la situación dado que el desconocimiento de la presencia de la enfermedad incrementa el riesgo de sufrir de las comorbilidades y, como consecuencia, la calidad de vida se ve afectada de manera negativa más frecuentemente disminuida (American Diabetes Association, 2015; Kalyani et al. 2010).

En el Perú, la DT2 afecta a más del 7 % de la población (más de 2.2 millones de personas) (Villena, 2015). Además, la DT2 es considerada la octava principal causa de muerte en el país, así como la primera principal causa de enfermedad renal crónica y de amputaciones no traumáticas de miembros inferiores (Villena, 2016). De hecho, se ha resaltado que es necesario implementar mejoras en los métodos diagnósticos y tratamientos de la DT2 para enfrentar sus repercusiones que van desde incapacidad temporal y permanente hasta muerte (Seclén, 2015).

Con respecto a las mejoras en los métodos diagnóstico-preventivos (MDP), los marcadores genéticos han probado su valor para la predicción de DT2, proveyendo de

información complementaria a aquella obtenida con marcadores metabólicos (Walford et al. 2014). Además, la identificación de variantes genéticas asociadas a la enfermedad ha permitido una mejor comprensión de la biología de la DT2 (Flannick y Florez, 2016).

El gen de la *calpaína 10* (*CAPN10*), ubicado en el brazo largo del cromosoma 2 (2q37.3), es el primer gen asociado con la DT2 (Horikawa et al., 2000). Actualmente varias referencias apoyan esta asociación original en diferentes poblaciones y especifican polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) en *CAPN10* asociados con la DT2 (Loya Méndez et al., 2015; Yan et al., 2014; Zhang et al., 2009; Song et al., 2004; Weedon et al., 2003). *CAPN10* es una cisteín-proteasa parte de la familia proteica de las calpaínas y que participa en la translocación del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) en respuesta a la señalización de la insulina (Cox et al., 2004). En este sentido, se ha visto cómo la supresión de la *CAPN10* resulta en una ingesta de glucosa (estimulada por la insulina) deficiente en cultivos celulares (Brown et al., 2007). No obstante, *CAPN10* es de por sí una calpaína atípica que carece de dominios de unión al calcio (Sorimachi y Suzuki, 2001) de la cual falta mucho por dilucidar dado que, a la fecha, carece de una estructura proteica cristalizada hasta la fecha (Prajapat y Bhattacharya, 2016). El entendimiento sobre cómo las variantes genéticas de la *CAPN10* afectan su función fisiológica, así como el entendimiento sobre su papel en la biología de la DT2 permanece aún sin ser esclarecido.

En la presente investigación se ha estudiado, en una muestra peruana, la asociación entre la DT2 y el SNP sinónimo rs3749166, que ha sido recientemente asociado con la DT2 (Karambataki et al., 2017) y cuyas variantes podrían tener repercusiones sobre el empalme alternativo del gen *CAPN10* (Karambataki et al., 2014). Este sería, según la

búsqueda bibliográfica llevada a cabo, el primer trabajo de asociación entre este SNP y la DT2 en el Perú, así como el segundo a nivel global.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. La diabetes

La diabetes es una agrupación de enfermedades crónicas que comparten la característica de que sus afectados presentan defectos en la secreción de la hormona insulina, en la acción de esta o en ambas; provocando así una acumulación de la glucosa en la sangre, también conocida como hiperglicemia (Mayo Clinic, 2019). Esta agrupación de enfermedades está clasificada según los procesos que las originan y según las etapas de estas. Así, se tiene a la diabetes tipo 1, a la DT2, a la diabetes gestacional y a un grupo de diabetes denominadas “diabetes de la edad madura que se presenta en el joven” o MODY (por sus siglas en inglés “maturity onset diabetes of the young”), pudiéndose presentar en etapas de normoglicemia o hiperglicemia (Alberti y Zimmet, 1998).

La diabetes (comprendiendo todos los tipos), con casi 500 millones de pacientes (de los cuales aproximadamente un 90 % presenta diabetes tipo 2), se ha convertido en más que solo una crisis sanitaria, volviéndose una “catástrofe social mundial”, palabras del Dr. Shaukat Sadikot, expresidente de la Federación Internacional de Diabetes (International Diabetes Federation, 2017). Esto se refrenda con el hecho de que, entre 1980 y 2014, la diabetes pasó a afectar de un 4.7 % a un 8.5 % de la población adulta mundial (World Health Organization, 2016). Si bien todos los tipos de diabetes están en aumento, la DT2 (la más frecuente) presenta claros motivos de su incremento debido a la frecuencia cada vez mayor de obesidad alrededor del mundo, el aumento de la esperanza de vida en la población global (más personas ancianas) y la prevalencia de estilos de vida

predominantemente sedentarios, características que directamente se asocian con el riesgo de sufrir DT2 (Simon 2010; Zheng et al., 2018).

Las consecuencias de la diabetes, aunque pueden presentarse en mayor o menor grado según el tipo de diabetes y tratamiento del paciente, involucran prácticamente a todo el organismo, resultando en daños a los vasos sanguíneos, enfermedad cardíaca, ceguera, falla renal, daño neurocognitivo, amputación de miembros, afección de la salud mental, entre otros (Porte y Schwartz, 1996; Trautner et al., 1996; Ryan et al., 2016; Ducat et al., 2014). La diabetes, de hecho, es culpable de causar tanto incapacidad temporal como permanente (Gregg et al., 2000), afectando en gran medida la calidad de vida de las personas que la padecen (Adriaanse et al., 2016). Asimismo, cabe resaltar que la diabetes es la séptima causa principal de muerte alrededor del mundo, con 1.6 millones de muertes directamente atribuidas a esta enfermedad solo en el 2016 (World Health Organization, 2018).

Por otro lado, el desarrollo de diabetes acarrea un gasto económico importante de al menos 612 billones de dólares mundialmente por año (da Rocha Fernandes et al., 2016). Situándonos en la región y hablando exclusivamente de la DT2, durante el 2015 en Latinoamérica y el Caribe, se estimaron 41 millones de adultos con la enfermedad, implicando gastos indirectos de 57.1 billones de dólares (entre mortalidad prematura, discapacidad permanente y discapacidad temporal), así como gastos directos de entre 45 y 66 billones de dólares (principalmente debido al tratamiento de las complicaciones) (Barcelo et al., 2017).

Con respecto a la manera de tratar la enfermedad, existen tratamientos más apropiados para ciertos tipos de diabetes que para otros, pero en general destacan aquellos basados

en la administración de insulina (vía subcutánea), de metformina (vía oral), de incretinas (vía oral), entre otros; muchas veces lográndose los mejores resultados al implementar tratamientos combinados (American Diabetes Association, 2018). No obstante, ha sido el enfoque preventivo uno de los más eficientes para lograr reducir el riesgo de sufrir comorbilidades (Herman et al., 2015) e incluso lograr prevenir la enfermedad a través de tratamientos no farmacológicos, como son los de someterse a cambios en el estilo de vida (Tuomilehto et al., 2001). Se ha reconocido a tal punto la importancia del diagnóstico temprano y correspondiente tratamiento que incluso se tienen organizados programas para promover estos eventos (Clark et al., 2000). Lamentablemente, como ya se ha mencionado, aún se está lejos de lograr que los diagnósticos tempranos de diabetes sean sucesos normales, teniendo la estimación de que el 50 % de las personas afectadas por DT2 carecen del diagnóstico (Beagley et al., 2014); esto agrava la situación al incrementar el riesgo de sufrir de comorbilidades y, por tanto, de una reducción significativa en su calidad de vida (American Diabetes Association, 2015; Kalyani et al., 2010).

El diagnóstico general de diabetes se da en base a biomarcadores metabólicos como son la glucosa plasmática en ayunas, la glucosa plasmática tras 2 horas de la ingesta de glucosa (prueba de tolerancia a la glucosa) y la hemoglobina glicada (HbA1c) (American Diabetes Association, 2010). Sin embargo, a pesar de que el diagnóstico de la diabetes se ha ido optimizando con el tiempo, sometiéndose a criterios más estrictos en cuanto a los niveles límite de los biomarcadores mencionados para considerar a una persona como no afectada (World Health Organization y International Diabetes Federation, 2006), aún existen discrepancias con respecto al diagnóstico alrededor de mundo (NCD Risk Factor Collaboration, 2015). Es precisamente sobre este punto, el diagnóstico, que la información genética podría tener un importante valor dado que, a pesar de la complejidad de la enfermedad, se ha visto conveniente el desarrollo de MDP basados

complementariamente en información genética (basada a su vez en SNPs asociados obtenidos por asociación genómica completa y validada) y en rasgos metabólicos (Walford et al., 2014).

Con respecto a la región, la implementación de estrategias, políticas y programas educativos acerca de la diabetes y su manejo, que a la vez estén acompañados de MDP, son necesarios para optimizar el tratamiento de esta condición en Latinoamérica (Escalante et al., 2014). Esto último va alineado con lo resaltado para el caso específico del Perú, donde mejoras en los MDP y tratamientos para la DT2 se clasifican como necesarias para enfrentar las repercusiones de la enfermedad (Seclén, 2015). Si consideramos que más del 7 % de la población está afectada (más de 2.2 millones de personas) (Villena, 2015) y que la DT2 es considerada la octava principal causa de muerte en el país, la primera principal causa de enfermedad renal crónica, así como la primera causa de amputaciones no traumáticas de miembros inferiores (Villena, 2016); es bastante comprensible el porqué de las sugerencias mencionadas al inicio de este párrafo y es que, a fin de cuentas, la DT2 ocupa uno de los primeros lugares en cuanto a los retos en salud pública en el país (Soto y Burstein, 2016).

2.2. Métodos diagnóstico-preventivos

Como ya se ha mencionado, el diagnóstico temprano y correspondiente tratamiento de la DT2 trae grandes beneficios para las personas afectadas (Herman et al., 2015; Tuomilehto et al., 2001; Clark et al., 2000), sobre todo ante la situación actual del diagnóstico de DT2 y sus implicancias. Ante esta problemática, se han visto limitados los biomarcadores metabólicos utilizados actualmente para diagnosticar la enfermedad (American Diabetes Association, 2010), incluso cuando se han ido modificando los

criterios diagnósticos (World Health Organization y International Diabetes Federation, 2006; NCD Risk Factor Collaboration, 2015). Como alternativa complementaria, la genética ha demostrado mejorar sensiblemente los MDP, involucrando marcadores genéticos que van desde variantes genéticas (Talmud et al., 2015) hasta la expresión diferencial de micro ARNs (miRNAs) (Kong et al., 2011).

Los marcadores genéticos ya han probado su valor para el desarrollo de MDP de DT2, proveyendo de información complementaria a aquella obtenida gracias a rasgos metabólicos y mejorando tanto el diagnóstico como la predicción de la enfermedad (Walford et al., 2014). No obstante, el aporte de estos marcadores genéticos por sí solos o en grupos pequeños se ha visto como “modesto” (Meigs et al., 2008; Lyssenko et al., 2008). Esto último probablemente se deba a la gran complejidad que ostenta la DT2, su naturaleza multifactorial, que involucra una compleja interacción entre factores ambientales y la arquitectura genética, sigue dificultando su entendimiento, de hecho, aún solo es posible explicar el 10 % de la heredabilidad de la enfermedad por causas genéticas (Fuchsberger et al., 2016).

A pesar de todo lo mencionado, el estudio de esta enfermedad desde el punto de vista genético sigue estando vigente (Rich, 2016), sobre todo buscando expandirse alrededor del mundo para lograr un mejor aprovechamiento práctico del conocimiento generado. De hecho, para continuar perfeccionando los MDP, actualmente se ha sugerido estudiar variantes genéticas menos comunes y, preferentemente, con una connotación funcional (Vassy et al., 2014). Asimismo, y en paralelo, existe la necesidad tanto de compartir de manera extendida la información genética como de validarla, población por población, para poder acercarse a los mejores y más apropiados MDP (Flannick y Florez, 2016; Wang et al., 2016).

En el Perú, al igual que en otros países de la región, existe un desconocimiento general del componente genético de la DT2 y, por lo tanto, una nula aplicación de marcadores genéticos en los MDP aplicados en el país (Dirección de Prevención de Enfermedades No Transmisibles y Oncológicas, 2016); sin embargo, investigaciones similares a la presente empiezan a dar las primeras luces sobre el trasfondo genético de la enfermedad en el Perú.

2.3. Gen calpaína 10 (*CAPN10*)

Las variantes genéticas son cambios en la secuencia de ADN que pueden o no causar un efecto funcional en la proteína. Además, estas variantes pueden estar asociadas a una enfermedad sin que ello suponga causalidad. Las variantes genéticas pueden tomar el nombre de “mutaciones” o de “polimorfismos”, dependiendo si están presentes en menos del 1 % de las personas de una determinada población o en más del 1 %, respectivamente. Los polimorfismos de un único nucleótido (SNP) han sido ampliamente utilizados en estudios de asociación genética. Además, gracias al desarrollo de nuevas tecnologías en los campos de la biología molecular y la computación, el descubrimiento de asociaciones entre estas variantes genéticas y diversas enfermedades, como la diabetes, se ha ido dando a pasos agigantados (Billings y Florez, 2010; Herder y Roden, 2011), pudiendo ahora utilizar dicha información para el desarrollo de MDP.

Uno de los primeros locus asociados a la DT2 ha sido NIDDM1 (por sus siglas en inglés “non insulin dependent diabetes mellitus 1”) ubicada en el cromosoma 2 (2q37.3) (Hanis et al., 1996). En el 2000, se identificó que el gen *CAPN10* se hallaba en dicha región y estaba efectivamente asociado a la enfermedad (Horikawa et al., 2000).

La proteína CAPN10 es una cisteín-proteasa que pertenece a la familia de las calpaínas; no obstante, es de por sí una calpaína atípica que carece de dominios de unión al calcio (Sorimachi y Suzuki, 2001) y acerca de la cual nos falta aún mucho por comprender. Aun así, se ha podido identificar el rol de la CAPN10 en la reorganización de la actina durante la translocación del transportador de glucosa 4 (GLUT4) en respuesta a la insulina (Cox et al., 2004) e incluso cómo la supresión de la CAPN10 resulta en una captación de glucosa (estimulada por la insulina) deficiente en cultivos celulares (Brown et al., 2007). Los esfuerzos por poder dar con una explicación biológica sobre la relevancia de la CAPN10 y la enfermedad se han ido desarrollando (Turner et al., 2005), a pesar de no contar con una cristalización de esta proteína atípica, por lo que incluso se ha recurrido a modelizaciones *in silico* para su mejor entendimiento (Prajapat y Bhattacharya, 2016). Para la fecha hasta se ha asociado este gen a respuestas farmacológicas diferenciales a la metformina en la DT2 (Tkáč et al., 2014).

A lo largo de los años, una serie de investigaciones han podido reafirmar la asociación entre *CAPN10* y la DT2, no solo en diferentes poblaciones, sino además encontrando diferentes variantes asociadas, como son los SNPs (Loya Méndez et al., 2015; Yan et al., 2014; Zhang et al., 2009; Song et al., 2004; Weedon et al., 2003). Sin embargo, también han existido reportes contradictorios (Sharma et al., 2013), aunque no muy sorprendentes, dado que se espera una distinta distribución de frecuencias alélicas de acuerdo a cada población, pudiéndose así afectar los resultados entre una población y otra (Turner et al., 2005). En esto último recae la importancia de la validación de cada marcador genético en cada población sobre la cual se desee aplicar. Para el caso de la población peruana, polimorfismos en *CAPN10* ya han sido previamente estudiados (SNP-19, SNP-43, SNP-

63), encontrándose asociación entre el SNP-19 y la DT2. (Paredes et al., 2005; Paredes et al., 2010).

2.4. SNP sinónimo rs3749166

Con respecto al SNP sinónimo rs3749116 del gen *CAPN10*, este ha sido recientemente reportado como asociado a la DT2 en población griega y europea (Karambataki et al., 2017). La importancia de este SNP reside en que hay indicios de que posee un rol funcional sobre la proteína al alterar el empalme alternativo de la *CAPN10* (Karambataki et al., 2014), lo cual es destacable porque cumple con la recomendación para los estudios de asociación, estudiar variantes menos comunes con una connotación funcional (Vassy et al., 2014).

En la actualidad, se ha retomado el estudio de los SNPs sinónimos, que en un primer momento se consideraron poco relevantes debido a que no modificaban la secuencia proteica a pesar de situarse en las regiones codificantes de los genes, existiendo ahora incluso herramientas en línea para la evaluación de estos y su repercusión en el empalme alternativo (Cartegni et al., 2003; Desmet et al., 2009). El estudio de estos SNPs, así como de la importancia del empalme alternativo, ya ha logrado asociación, e incluso explicación biológica, con enfermedades (Karambataki et al., 2014; Kim et al., 2018; Love et al., 2015).

Comprobar el estado de asociación entre el SNP sinónimo rs3749116 y la DT2 en la población peruana ayudará a explicar mejor la reportada asociación de la *CAPN10* con la DT2. Asimismo, aportará al entendimiento de la genética de la enfermedad, esta vez con la información de una variante con potencial connotación funcional.

III. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis nula

El SNP sinónimo rs3749166 está asociado con la DT2 en una muestra peruana de Lima.

3.2 Hipótesis alternativa

El SNP sinónimo rs3749166 no está asociado con la DT2 en una muestra peruana de Lima.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Determinar la existencia de una asociación entre el SNP sinónimo rs3749166 del gen de la *CAPN10* y la diabetes mellitus tipo 2 en una muestra peruana de Lima.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar las frecuencias alélicas del SNP sinónimo rs3749116 en una muestra peruana, tanto en pacientes y controles.
- Determinar las frecuencias genotípicas del SNP sinónimo rs3749116 en una muestra peruana de Lima, tanto en pacientes y controles.
- Determinar el factor de riesgo o de protección para la DT2 con respecto a las variantes del SNP sinónimo rs3749116 en una muestra peruana de Lima.
- Determinar si variables antropométricas y rasgos metabólicos están asociados con la DT2 en una muestra peruana de Lima.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Material biológico

Se utilizaron muestras de ADN genómico de 197 individuos sanos (controles) y 67 pacientes con DT2 diagnosticada, extraídas entre el 2016 y el 2018 en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza, ubicado en Lima Metropolitana. Cada participante accedió al estudio tras firmar el respectivo consentimiento informado aprobado por el comité de ética del Hospital Arzobispo Loayza (protocolo #023 CIEI-HNAL-2015), de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Todas las personas participantes incluyeron, además de edad y sexo, la siguiente información:

- a) Medidas antropométricas (índice de masa corporal (IMC), presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y circunferencia abdominal (CA)).
- b) Prueba de hemoglobina glicada (HbA1c).
- c) Perfil lipídico (colesterol total (TC), triglicéridos (TG), colesterol de alta densidad (HDL), colesterol de baja densidad (LDL) y colesterol de muy baja densidad (VLDL)).

También se aceptaron individuos a los que les faltara información de parte del perfil lipídico o a aquellos que les faltase medidas de su presión arterial, completando dicha información con la media de la variable en cuestión del grupo correspondiente (pacientes o controles).

Se excluyeron pacientes con antecedentes familiares de DT2, así como pacientes y controles con edades superiores a 65 años al momento de la toma de muestra sanguínea o con presencia de enfermedad tiroidea (hipotiroidismo o hipertiroidismo).

5.2 Diseño de cebadores

Haciendo uso de las herramientas de la página web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés “National Center for Biotechnology Information”) se obtuvo la secuencia en formato FASTA de las regiones flanqueantes, 200 pares de bases (pb, por sus siglas en inglés “base pairs”) corriente arriba y corriente abajo, del SNP rs3749166 en el genoma humano. Esta secuencia se utilizó para el diseño de los cebadores, pensando en una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés “quantitative polymerase chain reaction”), usando la herramienta en línea PrimerQuest (Owczarzy et al., 2008) de la empresa Integrated DNA Technologies® (IDT). Se indicaron los siguientes parámetros: (1) inclusión del SNP en el amplicón, (2) tamaño del amplicón (<100 pb) y (3) tamaño deseado de los cebadores (de 18 a 22 pb). El resto de los parámetros fueron dejados por defecto. Luego, mediante la herramienta en línea OligoAnalyzer (Owczarzy et al., 2008), también de IDT, se aseguró que los cebadores diseñados tuvieran valores de la energía libre de Gibbs (ΔG) cercanos a cero para predecir así que no exista una tendencia a la formación de horquillas, homodímeros ni heterodímeros. Finalmente, los cebadores elegidos, 5'-GAG CTG CGT GCC ACA TC-3' (cebador de avance) y 5'-GTA GGT GGA GGG CAC AAC-3' (cebador de reversa), fueron sintetizados por la empresa Biotechnology Latina SRL®.

5.3 Genotipificación

La genotipificación se realizó mediante el análisis de alta resolución de fusión (HRM, por sus siglas en inglés “high resolution melting”). Para llevar a cabo este análisis fue necesario realizar la amplificación de ADN mediante una qPCR, seguida de una curva de fusión para cada muestra. Posteriormente, las curvas de fusión fueron analizadas en el programa High Resolution Melting v.3.01 de Applied Biosystems™. Los genotipos identificados luego fueron confirmados mediante la secuenciación de 10 muestras aleatorias, realizadas en el Instituto Nacional de Salud en un secuenciador BigDye Terminator Kit v3.1 de Applied Biosystems™, de acuerdo con las indicaciones del fabricante. La secuencia nucleotídica fue analizada usando el programa SeqScape® de Applied Biosystems™.

Tras la estandarización de la qPCR con los cebadores diseñados (arriba reportados) los componentes de la mezcla maestra para qPCR se describen en la Tabla 1. Por otro lado, las condiciones de la qPCR y de la curva de fusión se describen en la Tabla 2.

Tabla 1. Componentes y cantidades de la mezcla maestra para qPCR

Componentes	Para 1 X (μL)	Concentración final
MeltDoctor™ HRM Master Mix	5.0	1 X
Cebador de avance (10 μM)	0.5	0.5 μM
Cebador de reversa (10 μM)	0.5	0.5 μM
ADN (5 ng/μL)	2.0	1 ng/μL
Agua libre de nucleasas	2.0	-
Volumen Total	10	-

Tabla 2. Condiciones del termociclador para la qPCR y HRM

Etapa	Subetapa	Temperatura (°C)	Tiempo
Inicio	Activación enzimática	95	10 m
Ciclado (40 ciclos)	Denaturación	95	15 s
	Templado y extensión	65	1 m
Curva de Fusión / Disociación	Denaturación	95	10 s
	Templado	65	1 m
	HRM	85	15 s

5.4 Análisis estadístico

La normalidad de las variables continuas se evaluó mediante la prueba de Shapiro Wilks (Tabla 3). Las variables continuas fueron descritas con la media y desviación estándar (DE), cuando siguieron una distribución normal; en caso contrario se describieron con la mediana y los cuartiles primero (q1) y tercero (q3). Para la comparación entre grupos de las variables continuas que seguían distribución normal, se realizó la prueba T de Welch; mientras que para las variables continuas que no seguían una distribución normal, se realizó la prueba U de Wilcoxon-Mann-Whitney. Las variables categóricas se compararon mediante la prueba de chi cuadrado. El nivel de significancia se definió como $P < 0.05$. El lenguaje de programación R (R Core Team, 2018) se utilizó para realizar las pruebas estadísticas anteriormente mencionadas.

Tabla 3. Prueba de normalidad Shapiro-Wilks de las variables

Variables	Controles (<i>P-value*</i>)	Pacientes DT2 (<i>P-value*</i>)
Edad (años)	3.93E-05	0.0057
PAS (mmHg)	4.21E-10	1.73E-06
PAD (mmHg)	4.42E-06	0.0010
CA (cm)	0.0001	0.0159
Peso (kg)	0.0026	0.1113
Talla (m)	0.0005	0.4736
IMC (kg/m²)	0.5936	0.2714
HbA1c (%)	4.24E-14	1.96E-06
CT (mg/dL)	0.0220	0.0726
TG (mg/dL)	4.24E-13	6.46E-07
HDL (mg/dL)	0.0026	0.2647
LDL (mg/dL)	0.0032	0.4209
VLDL (mg/dL)	2.31E-15	4.18E-06

En negrita las variables que siguen una distribución normal en ambos grupos estudiados.

*Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.

Se realizó el análisis de asociación genética utilizando la herramienta en línea SNPStats (Sole et al., 2006). Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) mediante la prueba exacta para el equilibrio de Hardy-Weinberg, este resultado se usó como control de calidad de la genotipificación. Asimismo, además del análisis en crudo (regresión logística considerando únicamente la información genética), también se realizaron análisis ajustados (regresión logística que consideró además de la información genética, las otras variables evaluadas; siendo el ajuste 1 aquel que consideró todas las variables evaluadas y el ajuste 2 aquel que consideró solo las variables que mostraron diferencias entre los grupos control y DT2 (HbA1c, PAS, PAD, CA, edad, e IMC). Para ambos tipos de análisis, en crudo y ajustados, se realizaron 5 modelos de herencia, descritos en la Tabla 4. La evaluación de la calidad relativa de los modelos fue realizada mediante el criterio de

información de Akaike (AIC). Finalmente, se describieron las pruebas de asociación mediante la proporción de probabilidades (OR) e intervalos de confianza (CI) del 95%.

Tabla 4. Modelos de herencia

Modelo	Definición
Codominante	Cada genotipo presenta el mismo riesgo de generar la enfermedad.
Dominante	Poseer una o dos copias del alelo menos frecuente presenta el mismo riesgo de generar la enfermedad.
Recesivo	Se necesitan dos copias del alelo menos frecuente para modificar el riesgo de generar la enfermedad.
Sobredominante	Los genotipos homocigotos presentan el mismo riesgo de generar la enfermedad.
Log-aditivo	Cada copia del alelo menos frecuente modifica el riesgo de generar la enfermedad de forma aditiva.

VI. RESULTADOS

6.1 Análisis estadístico de las variables estudiadas

La descripción de las variables estudiadas, tanto del grupo de pacientes DT2 como del grupo de controles, está mostrada en la Tabla 5. Las variables HbA1c, PAS, PAD, CA, edad, e IMC mostraron valores significativamente más elevados en el grupo de pacientes DT2 que en el grupo de controles ($P < 0.05$), mientras que la variable HDL mostró ser significativamente menor en el grupo de pacientes DT2 que en el grupo de controles ($P < 0.05$). Por otra parte, las variables CT, TG, LDL y VLDL no mostraron diferencias significativas entre los grupos. El género tampoco mostró diferencias significativas entre grupos.

6.2 Frecuencias alélicas

Se observaron 2 alelos en la muestra estudiada, el alelo A y el alelo G. Las frecuencias alélicas fueron muy similares entre grupos, siendo de 0.56 y 0.57 para el alelo A en el grupo de controles y de pacientes DT2, respectivamente (Tabla 6). En ambos casos, el alelo más frecuente fue A, mientras que el menos frecuente fue el G. Asimismo, la frecuencia del alelo menos común (MAF) fue de 0.44 y 0.43 en el grupo de controles y de pacientes DT2, respectivamente (Tabla 6). No se encontraron otras variantes genéticas.

Tabla 5. Descripción de variables categóricas y continuas

Variables	Estadísticos	Controles (n = 197)	Pacientes DT2 (n = 67)	P-value
Sexo	Femenino n (%)	139 (71)	39 (58)	0.0624 ^a
	Masculino n (%)	58 (29)	28 (42)	
Edad (años)	Mediana (q1, q3)	47 (40, 52)	49 (46, 54)	0.028^b
PAS (mm hg)	Mediana (q1, q3)	110 (100, 120)	122 (110, 130)	1.40E-08^b
PAD (mm hg)	Mediana (q1, q3)	69 (60, 75)	77 (70, 80)	1.70E-07^b
CA (cm)	Mediana (q1, q3)	90 (85, 96)	95.6 (92, 100)	3.56E-06^b
IMC (kg/m²)	Media (DE)	25.4 (23.4, 27.5)	26.7 (25.0, 28.9)	0.0010^c
HbA1c (%)	Mediana (q1, q3)	5.6 (5.3, 5.8)	7.1 (5.9, 9.7)	2.20E-16^b
CT (mg/dl)	Mediana (q1, q3)	199.4 (177.0, 221.4)	189.9 (170.0, 215.3)	0.1897 ^b
TG (mg/dl)	Mediana (q1, q3)	132.7 (108.0, 177.7)	141.5 (115.0, 188.1)	0.2700 ^b
HDL (mg/dl)	Mediana (q1, q3)	53.7 (49.1, 58.7)	49.5 (44.3, 53.4)	6.39E-06^b
LDL (mg/dl)	Mediana (q1, q3)	114.1 (88.5, 134.7)	113.1 (86.5, 139.1)	0.9431 ^b
VLDL (mg/dl)	Mediana (q1, q3)	26.7 (21.6, 35.6)	30.2 (23.9, 37.6)	0.1509 ^b

En negrita las variables con valores de P significativos.

a: Prueba Chi cuadrado de Pearson.

b: Prueba U de Mann-Whitney-Wilcoxon.

c: Prueba T de Welch.

Tabla 6. Frecuencias alélicas del SNP rs3749166

Alelo	Controles	Pacientes DT2	P-value*
A n (%)	220 (56)	77 (57)	0.7432
G n (%)	174 (44)	57 (43)	

*Prueba Chi cuadrado de Pearson.

6.3 Frecuencias genotípicas

Se detectaron 3 genotipos (A/A, A/G y G/G) (Figuras 1 y 2) en ambos grupos, correspondientes a los 2 alelos disponibles (A y G). El genotipo más frecuente en ambos grupos fue el heterocigoto A/G, seguido del homocigoto A/A y finalmente el homocigoto G/G, el menos frecuente. Nuevamente se observaron frecuencias similares entre grupos, siendo de 0.30, 0.51 y 0.19 para el grupo control y de 0.28, 0.58 y 0.13 para el grupo de pacientes DT2, para los genotipos A/A, A/G y G/G, respectivamente (Tabla 7).

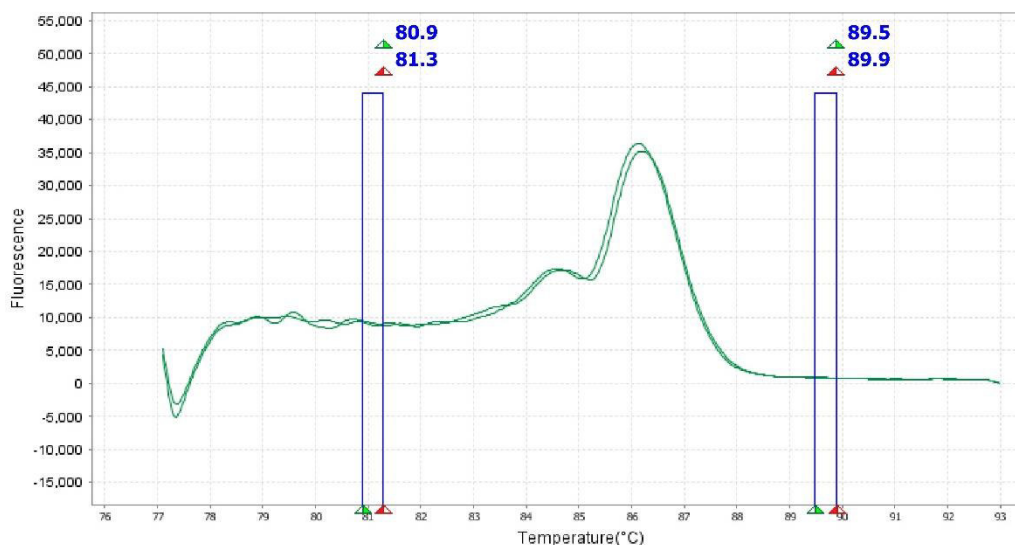


Figura 1. Genotipos heterocigotos visualizados en la curva derivativa de fusión. Se presentan 2 muestras independientes. En verde se observan las 2 muestras correspondientes al heterocigoto (A/G).

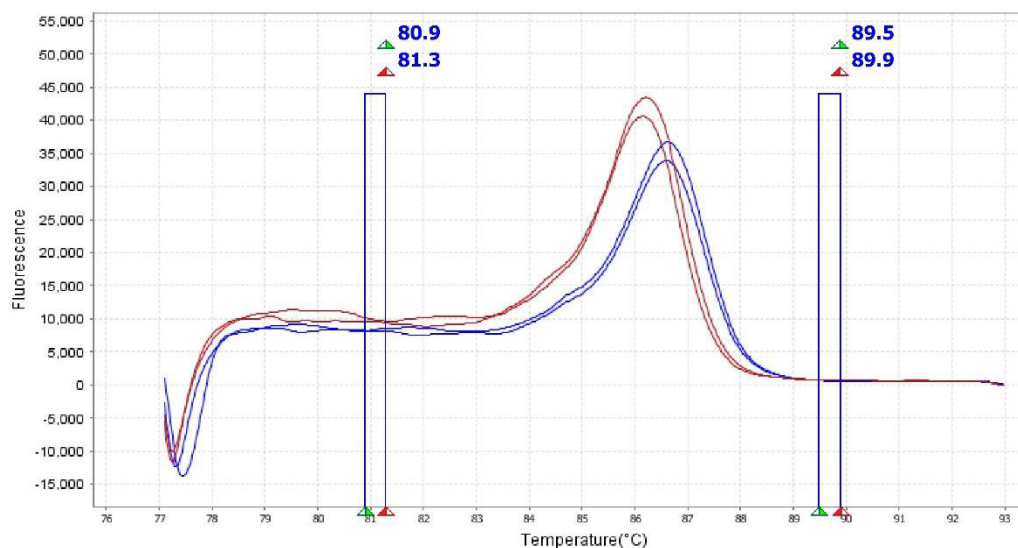


Figura 2. Genotipos homocigotos visualizados en la curva derivativa de fusión. Se presentan 4 muestras independientes. En rojo se observan las 2 muestras correspondientes al homocigoto A (A/A), mientras que en azul se observan las 2 muestras correspondientes al homocigoto G (G/G).

Tabla 7. Frecuencias genotípicas del SNP rs3749166

Genotipos	Controles (N = 197)		Pacientes DT2 (N = 67)	
	N	Proporción	N	Proporción
A/A	60	0.30	19	0.28
A/G	100	0.51	39	0.58
G/G	37	0.19	9	0.13

Con respecto al EHW, la prueba exacta indica que no hay desviación significativa entre las frecuencias observadas y las teóricas según el principio de HW en cualquiera de los grupos ($P > 0.05$) (Tabla 8).

Tabla 8. Prueba exacta del equilibrio Hardy-Weinberg para el SNP rs3749166

Alelos / Genotipos	A/A	A/G	G/G	A	G	<i>P-value</i>
Control	60	100	37	220	174	0.77
Pacientes DT2	19	39	9	77	57	0.21

6.4 Análisis de asociación alélica y genotípica

Con respecto a la asociación alélica, no se observó ninguna asociación estadísticamente significativa ($P > 0.05$) (Tabla 6). De igual manera para el caso de la asociación genotípica, no se observó ninguna estadísticamente significativa en ninguno de los análisis ni modelos evaluados (los IC incluyeron siempre el valor de 1.00 y los *p-value* siempre fueron mayores a 0.05) (Tablas 9-11).

Entre los modelos evaluados, de acuerdo con el AIC, se pudo identificar que el modelo recesivo fue el mejor en los 3 análisis (aunque en el análisis crudo empató con el modelo sobredominante) según el AIC obtenido. Se observó cómo los modelos ajustados aparentemente mejoran la calidad relativa de los modelos (salvo en el modelo sobredominante); no obstante, igualmente no se identificó ninguna asociación estadísticamente significativa (Tablas 9-11).

Tabla 9. Pruebas de asociación en crudo entre el SNP rs3749166 y la DT2

Modelos	Genotipos	Controles	Pacientes DT2	OR (95% CI)	<i>P-value</i>	AIC
Codominante	A/A	60 (30.5%)	19 (28.4%)	1.00	0.48	303.6
	A/G	100 (50.8%)	39 (58.2%)	1.23 (0.65-2.32)		
	G/G	37 (18.8%)	9 (13.4%)	0.77 (0.31-1.88)		
Dominante	A/A	60 (30.5%)	19 (28.4%)	1.00	0.75	303.0
	A/G-G/G	137 (69.5%)	48 (71.6%)	1.11 (0.60-2.04)		
Recesivo	A/A-A/G	160 (81.2%)	58 (86.6%)	1.00	0.31	302.0
	G/G	37 (18.8%)	9 (13.4%)	0.67 (0.31-1.48)		
Sobredominante	A/A-G/G	97 (49.2%)	28 (41.8%)	1.00	0.29	302.0
	A/G	100 (50.8%)	39 (58.2%)	1.35 (0.77-2.37)		
Log-aditivo	---	---	---	0.93 (0.62-1.40)	0.73	303.0

Tabla 10. Pruebas de asociación según ajuste 1 entre el SNP rs3749166 y la DT2

Modelos	Genotipos	Controles	Pacientes DT2	OR (95% CI)	<i>P-value</i>	AIC
Codominante	A/A	60 (30.5%)	19 (28.4%)	1.00	0.40	151.8
	A/G	100 (50.8%)	39 (58.2%)	0.81 (0.27-2.40)		
	G/G	37 (18.8%)	9 (13.4%)	0.35 (0.07-1.76)		
Dominante	A/A	60 (30.5%)	19 (28.4%)	1.00	0.46	151.0
	A/G-G/G	137 (69.5%)	48 (71.6%)	0.68 (0.24-1.92)		
Recesivo	A/A-A/G	160 (81.2%)	58 (86.6%)	1.00	0.20	149.9
	G/G	37 (18.8%)	9 (13.4%)	0.40 (0.09-1.73)		
Sobredominante	A/A-G/G	97 (49.2%)	28 (41.8%)	1.00	0.79	151.5
	A/G	100 (50.8%)	39 (58.2%)	1.14 (0.43-3.01)		
Log-aditivo	---	---	---	0.64 (0.30-1.34)	0.23	150.1

Tabla 11. Pruebas de asociación según ajuste 2 entre el SNP rs3749166 y la DT2

Modelos	Genotipos	Controles	Pacientes DT2	OR (95% CI)	<i>P-value</i>	AIC
Codominante	A/A	60 (30.5%)	19 (28.4%)	1.00	0.43	153.3
	A/G	100 (50.8%)	39 (58.2%)	0.87 (0.32-2.35)		
	G/G	37 (18.8%)	9 (13.4%)	0.40 (0.09-1.76)		
Dominante	A/A	60 (30.5%)	19 (28.4%)	1.00	0.53	152.6
	A/G-G/G	137 (69.5%)	48 (71.6%)	0.74 (0.28-1.91)		
Recesivo	A/A-A/G	160 (81.2%)	58 (86.6%)	1.00	0.20	151.3
	G/G	37 (18.8%)	9 (13.4%)	0.43 (0.11-1.68)		
Sobredominante	A/A-G/G	97 (49.2%)	28 (41.8%)	1.00	0.73	152.9
	A/G	100 (50.8%)	39 (58.2%)	1.17 (0.48-2.85)		
Log-aditivo	---	---	---	0.68 (0.35-1.34)	0.26	151.7

VII. DISCUSIÓN

Uno de los mayores problemas sin resolver que existen en torno a la DT2 es cómo poder dar con un diagnóstico certero, así como su prevención. Hoy en día se estima que el 50% de los pacientes con DT2 no están diagnosticados (Beagley et al., 2014), lo cual se corresponde con un mayor riesgo de sufrir comorbilidades y, por tanto, de una disminución en su calidad de vida (American Diabetes Association 2015; Kalyani et al., 2010). El aporte que pueden tener las variantes genéticas para el desarrollo de nuevos y mejores MDP es significativo e innegable (Vassy et al., 2014; Walford et al., 2014). La presente investigación busca determinar la existencia de asociación entre el SNP sinónimo rs3749166 de *CAPN10* y la DT2 en una muestra peruana de Lima y así ayudar a esclarecer el componente genético de la enfermedad en Lima y en el país.

Las variables HbA1c, PAS, PAD, CA, edad, IMC y HDL evidenciaron diferencias significativas entre el grupo de pacientes DT2 y el grupo de controles ($P < 0.05$) (Tabla 5), lo cual resulta perfectamente concordante con la bibliografía.

La HbA1c es considerada como un promedio de la glucosa en sangre de los últimos 3 meses previos a su evaluación, siendo incluso considerada como una variable diagnóstica de la enfermedad (World Health Organization, 2011). Los niveles de HbA1c son superiores en pacientes con DT2 que en individuos sanos.

Con respecto a las variables asociadas de PAS y PAD, la hipertensión se ha visto asociada fuertemente con la DT2, aumentado a su vez el riesgo de sufrir complicaciones

macro y microvasculares (Adler et al., 2000; Mancia, 2005). Por este motivo se encuentran valores superiores de PAS y PAD en pacientes que en individuos sanos.

De manera similar, la edad es otro de los grandes factores de riesgo asociados a la DT2 (Schwarz et al., 2009), de modo que haber hallado al grupo de pacientes más envejecido que el de controles corresponde con lo reportado.

Por otro lado, la obesidad es una de los factores más importantes asociados con el desarrollo de DT2 (Zheng et al., 2018; Simon, 2010). La obesidad puede evidenciarse tanto por la CA (Vazquez et al., 2007; Wei et al., 1997) como por el IMC (que se calcula a partir del peso y altura de una persona) (Narayan et al., 2007). Era esperado encontrar valores mayores de los indicadores de obesidad en pacientes que en controles.

Finalmente, con respecto al HDL, se sabe que a veces puede verse reducida en pacientes DT2 (Soran et al., 2016), como precisamente se ha visto en este caso.

Las variables edad y sexo no presentaron diferencias significativas entre grupos debido a que hubo un sesgo intencional durante la selección de pacientes y controles, buscando reducir la varianza lo más posible al escoger una muestra de edades y proporción de sexos semejantes. Por otro lado, las variables de CT, TG, LDL y VLDL no mostraron diferencias significativas probablemente por ser una característica de la muestra, sabiendo que estas variables no siempre se encuentran asociadas a la DT2. (Soran et al., 2016; Haffner y American Diabetes Association, 2004).

En cuanto a las frecuencias alélicas encontradas para el SNP sinónimo rs3749166 (A>G), se vieron frecuencias semejantes a las reportadas en el portal de Ensembl (Yates et al.,

2016), siendo el MAF reportado en Ensembl sobre la fase 3 del proyecto “1000 genomas” para la muestra peruana de Lima (PEL) de 0.429 (Ensembl 2019) y de 0.44 y 0.43 para el grupo de controles y de pacientes DT2 en la muestra estudiada en la presente investigación, respectivamente (Tabla 6).

De manera similar para las frecuencias genotípicas, lo reportado en Ensembl sobre la fase 3 del proyecto “1000 genomas” para la PEL fue de 0.329, 0.482 y 0.188 para los genotipos A/A, A/G y G/G, respectivamente (Ensembl 2019), mientras que para la muestra estudiada en la presente investigación fue de 0.30, 0.51 y 0.19 para el grupo control y de 0.28, 0.58 y 0.13 para el grupo de pacientes DT2, para los genotipos A/A, A/G y G/G, respectivamente (Tabla 7). Tanto las frecuencias alélicas como genotípicas reportadas en Ensembl fueron cercanas a las del grupo control e incluso a las del grupo de pacientes DT2. Asimismo, cabe resaltar que el SNP sinónimo rs3749166 se ajustan al EHW tanto para la información proveniente del Ensembl como de la obtenida en la presente investigación (Tabla 8).

Con respecto a la asociación del SNP sinónimo rs3749166 con la DT2, a pesar del reporte de asociación en población griega (Karambataki et al., 2017) y de su aparente connotación funcional sobre la *CAPN10* (Karambataki et al., 2014), no se observó ninguna asociación alélica (Tabla 6) ni genotípica (Tablas 9-11) en ninguno de los análisis ni modelos realizados. Esto parece reafirmar otros reportes sobre este SNP, donde tampoco se evidenció asociación alguna con la DT2 por sí solo (Alsaraj et al., 2010; Song et al., 2004). Se ha reportado también que el SNP sinónimo rs3749166 tampoco presentó asociación por sí solo con la diabetes gestacional (Song et al., 2007). Estas contradicciones podrían deberse a una diferente distribución de frecuencias alélicas correspondientes a las distintas poblaciones (Turner et al., 2005) de los reportes y de la

presente investigación. Otra explicación alternativa es que el SNP sinónimo rs3749166 no sea otra cosa si no un marcador por cercanía de otra variable genética que sí estaría verdaderamente asociada a la enfermedad.

A pesar de no haberse observado asociación alguna entre el SNP rs3749166 y la DT2, cabe resaltar que el SNP podría resultar asociado al estudiarse la asociación haplotípica de varios SNPs en la *CAPN10* y la DT2. En particular, ese comportamiento se ha visto para los SNPs en la *CAPN10* desde la asociación original (Horikawa et al., 2000), viéndose cómo SNPs independientes no muestran asociaciones significativas, pero sí asociaciones haplotípicas estadísticamente significativas al evaluarse junto a otros SNPs de este gen (Adak et al., 2010). Este resulta ser incluso el caso del SNP sinónimo rs3749166 (Alsaraj et al., 2010; Song et al., 2004), donde se estudiaron además los SNP-19, SNP-43 y SNP-63, los cuales han sido los SNPs precisamente validados en otra muestra peruana (Paredes et al., 2005) y de los cuales hasta se ha reportado una asociación entre el SNP-19 y la DT2 en un estudio de familias peruanas (Paredes et al., 2010).

Finalmente, cabe mencionar que la presente investigación resulta ser, según la revisión bibliográfica realizada, la primera en estudiar el estado de asociación entre el SNP sinónimo rs3749166 y la DT2 en una muestra peruana. Aún cuando no se observó ninguna asociación estadísticamente significativa, se espera que este trabajo pueda aportar información que ayude a mejorar nuestro entendimiento sobre el componente genético de la DT2 en la población limeña y peruana.

VIII. CONCLUSIONES

1. No se evidencia ninguna asociación estadísticamente significativa entre el SNP sinónimo rs3749166 del gen *CAPN10* y la diabetes mellitus tipo 2 en la muestra peruana de Lima evaluada. La hipótesis nula no se ha visto soportada, siendo la alternativa la favorecida, no hay evidencia de asociación.
2. Las variantes alélicas del SNP sinónimo rs3749116 en la muestra peruana evaluada fueron los alelos A y G. Mientras que las variantes genotípicas fueron los genotipos A/A, A/G y G/G. Estas se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los casos.
3. La frecuencia del alelo menos común del SNP sinónimo rs3749116 (A>G) fue de 0.44 y 0.43 para el grupo de controles y de pacientes DT2, respectivamente. Asimismo, el genotipo más frecuente en ambos grupos fue el heterocigoto A/G, seguido del homocigoto A/A y finalmente el homocigoto G/G, el menos frecuente.
4. No se pudo determinar ningún factor de riesgo o de protección para la DT2 con respecto a las variantes del SNP sinónimo rs3749116 en la muestra peruana evaluada, debido a que no se encontró ninguna asociación significativa.
5. Las variables continuas HbA1c, PAS, PAD, CA, edad, IMC y HDL sí se observaron asociadas a la DT2 en la muestra peruana evaluada.

IX. RECOMENDACIONES

1. Aumentar el tamaño de muestra para confirmar los resultados.
2. Realizar estudios de asociación haplotípica con la información del SNP sinónimo rs3749166 y otros SNPs dentro o en regiones flanqueantes del gen *CAPN10*.
3. Evaluar el efecto de las variantes del SNP sinónimo rs3749166 sobre el empalme alternativo de la *CAPN10*, *in silico* e *in vivo*, para ayudar a entender mejor su relevancia en cuanto a la misma *CAPN10* y a la DT2.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAK, S., SENGUPTA, S., CHOWDHURY, S. y BHATTACHARYYA, M., 2010. Co-existence of risk and protective haplotypes of Calpain 10 gene to type 2 diabetes in the eastern Indian population. *Diabetes and Vascular Disease Research*, vol. 7, no. 1, pp. 63-68. ISSN 14791641. DOI 10.1177/1479164109351370.
- ADLER, A.I., STRATTON, I.M., NEIL, H.A., YUDKIN, J.S., MATTHEWS, D.R., CULL, C.A., WRIGHT, A.D., TURNER, R.C. y HOLMAN, R.R., 2000. Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. *BMJ (Clinical research ed.)* [en línea], vol. 321, no. 7258, pp. 412-9. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 0959-8138. DOI 10.1136/BMJ.321.7258.412. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10938049>.
- ADRIAANSE, M.C., DREWES, H.W., VAN DER HEIDE, I., STRUIJS, J.N. y BAAN, C.A., 2016. The impact of comorbid chronic conditions on quality of life in type 2 diabetes patients. *Quality of Life Research*, vol. 25, no. 1, pp. 175-182. ISSN 15732649. DOI 10.1007/s11136-015-1061-0.
- ALBERTI, K.G.M.M. y ZIMMET, P.Z., 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine* [en línea], vol. 15, no. 7, pp. 539-553. [Consulta: 12 marzo 2019]. ISSN 0742-3071. DOI 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291096-9136%28199807%2915%3A7%3C539%3A%3AAID-DIA668%3E3.0.CO%3B2-S>.

- ALSARAJ, F., O'GORMAN, D., MCATEER, S., MCDERMOTT, J., HAWI, Z. y SREENAN, S., 2010. Haplotype association of calpain 10 gene variants with type 2 diabetes mellitus in an Irish sample. *Irish Journal of Medical Science*, vol. 179, no. 2, pp. 269-272. ISSN 00211265. DOI 10.1007/s11845-010-0462-x.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* [en línea], vol. 33, no. Suppl 1, pp. S62-S69. [Consulta: 20 noviembre 2018]. DOI 10.2337/dc10-S062. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20042775>.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015. Standards of medical care in diabetes - 2015 abridged for primary care providers. *Clinical diabetes: a publication of the American Diabetes Association*, vol. 33, no. 2, pp. 97-111. ISSN 08918929. DOI 10.2337/diaclin.33.2.97.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018. 8. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes care*, vol. 41, no. Supplement 1, pp. S73-S85.
- BARCELO, A., ARREDONDO, A., GORDILLO-TOBAR, A., SEGOVIA, J. y QIANG, A., 2017. The cost of diabetes in Latin America and the Caribbean in 2015: Evidence for decision and policy makers. *Journal of global health* [en línea], vol. 7, no. 2, pp. 020410. ISSN 2047-2986. DOI 10.7189/jogh.07.020410. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29163935>.
- BEAGLEY, J., GUARIGUATA, L., WEIL, C. y MOTALA, A.A., 2014. Global estimates of undiagnosed diabetes in adults. *Diabetes Research and Clinical Practice* [en línea], vol. 103, no. 2, pp. 150-160. ISSN 18728227. DOI 10.1016/j.diabres.2013.11.001. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.001>.

- BILLINGS, L.K. y FLOREZ, J.C., 2010. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? *Annals of the New York Academy of Sciences* [en línea], vol. 1212, no. 1, pp. 59-77. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 00778923. DOI 10.1111/j.1749-6632.2010.05838.x. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2010.05838.x>.
- BROWN, A.E., YEAMAN, S.J. y WALKER, M., 2007. Targeted suppression of calpain-10 expression impairs insulin-stimulated glucose uptake in cultured primary human skeletal muscle cells. *Molecular Genetics and Metabolism*, vol. 91, no. 4, pp. 318-324. ISSN 10967192. DOI 10.1016/j.ymgme.2007.05.001.
- CARTEGNI, L., WANG, J., ZHU, Z., ZHANG, M.Q. y KRAINER, A.R., 2003. ESEfinder: A web resource to identify exonic splicing enhancers. *Nucleic Acids Research*, vol. 31, no. 13, pp. 3568-3571. ISSN 03051048. DOI 10.1093/nar/gkg616.
- CLARK, C.M., FRADKIN, J.E., HISS, R.G., LORENZ, R.A., VINICOR, F. y WARREN-BOULTON, E., 2000. Promoting Early Diagnosis and Treatment of Type 2 Diabetes. *JAMA* [en línea], vol. 284, no. 3, pp. 363. [Consulta: 12 marzo 2019]. DOI 10.1001/jama.284.3.363. Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.284.3.363>.
- COX, N.J., HAYES, M.G., ROE, C.A., TSUCHIYA, T. y BELL, G.I., 2004. Linkage of Calpain 10 to Type 2 Diabetes: The Biological Rationale. *Diabetes*, vol. 53, no. SUPPL. 1, pp. 19-25. ISSN 00121797. DOI 10.2337/diabetes.53.2007.S19.
- DA ROCHA FERNANDES, J., OGURTSOVA, K., LINNENKAMP, U., GUARIGUATA, L., SEURING, T., ZHANG, P., CAVAN, D. y MAKAROFF, L.E., 2016. IDF Diabetes Atlas estimates of 2014 global health expenditures on diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* [en línea], vol. 117, pp. 48-54. [Consulta: 12 marzo 2019]. DOI

10.1016/J.DIABRES.2016.04.016. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168822716300808>.

DESMET, F.-O., HAMROUN, D., LALANDE, M., COLLOD-BÉROUD, G., CLAUSTRES, M. y BÉROUD, C., 2009. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Research* [en línea], vol. 37, no. 9, pp. e67-e67. ISSN 1362-4962. DOI 10.1093/nar/gkp215. Disponible en:
<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkp215>.

DIRECCIÓN DE PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES Y ONCOLÓGICAS, 2016. *Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención* [en línea]. 2016. S.l.: s.n. [Consulta: 14 marzo 2019]. R.M. N° 719-2015/MINSA R.M. N° 719-2015/MINSA. Disponible en: www.minsa.gob.pe.

DUCAT, L., PHILIPSON, L.H., ANDERSON, B.J., 2014. The Mental Health Comorbidities of Diabetes. *Journal of the American Medical Association*, pp. 1-2. DOI 10.1001/jama.2014.8040.

ENSEMBL, 2019. rs3749166 (SNP) - Population genetics - Homo sapiens. *Ensembl genome browser 95* [en línea]. [Consulta: 17 marzo 2019]. Disponible en:
https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=2:240597504-240598504;v=rs3749166;vdb=variation;vf=194780316.

ESCALANTE, M., GAGLIARDINO, J.J., GUZMÁN, J.R. y TSCHIEDEL, B., 2014. Call-to-action: Timely and appropriate treatment for people with type 2 diabetes in Latin America. *Diabetes Research and Clinical Practice* [en línea], vol. 104, no. 3, pp. 343-352. ISSN 0168-8227. DOI 10.1016/J.DIABRES.2014.01.004. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168822714000060>.

FLANNICK, J. y FLOREZ, J.C., 2016. Type 2 diabetes: Genetic data sharing to advance complex disease research. *Nature Reviews Genetics* [en línea], vol. 17, no. 9, pp. 535-549. ISSN 14710064. DOI 10.1038/nrg.2016.56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg.2016.56>.

FUCHSBERGER, C., FLANNICK, J., TESLOVICH, T.M., MAHAJAN, A., AGARWALA, V., GAULTON, K.J., MA, C., FONTANILLAS, P., MOUTSIANAS, L., MCCARTHY, D.J., RIVAS, M.A., PERRY, J.R.B., SIM, X., BLACKWELL, T.W., ROBERTSON, N.R., RAYNER, N.W., CINGOLANI, P., LOCKE, A.E., TAJES, J.F., HIGHLAND, H.M., DUPUIS, J., CHINES, P.S., LINDGREN, C.M., HARTL, C., JACKSON, A.U., CHEN, H., HUYGHE, J.R., VAN DE BUNT, M., PEARSON, R.D., KUMAR, A., MÜLLER-NURASYID, M., GRARUP, N., STRINGHAM, H.M., GAMAZON, E.R., LEE, Jaehoon, CHEN, Y., SCOTT, R.A., BELOW, J.E., CHEN, P., HUANG, J., GO, M.J., STITZEL, M.L., PASKO, D., PARKER, S.C.J., VARGA, T. V., GREEN, T., BEER, N.L., DAY-WILLIAMS, A.G., FERREIRA, T., FINGERLIN, T., HORIKOSHI, M., HU, C., HUH, I., IKRAM, M.K., KIM, B.-J., KIM, Y., KIM, Y.J., KWON, M.-S., LEE, Juyoung, LEE, S., LIN, K.-H., MAXWELL, T.J., NAGAI, Y., WANG, X., WELCH, R.P., YOON, J., ZHANG, W., BARZILAI, N., VOIGHT, B.F., HAN, B.-G., JENKINSON, C.P., KUULASMAA, T., KUUSISTO, J., MANNING, A., NG, M.C.Y., PALMER, N.D., BALKAU, B., STANČÁKOVÁ, A., ABBOUD, H.E., BOEING, H., GIEDRAITIS, V., PRABHAKARAN, D., GOTTESMAN, O., SCOTT, J., CAREY, J., KWAN, P., GRANT, G., SMITH, J.D., NEALE, B.M., PURCELL, S., BUTTERWORTH, A.S., HOWSON, J.M.M., LEE, H.M., LU, Y., KWAK, S.-H., ZHAO, W., DANESH, J., LAM, V.K.L., PARK, K.S., SALEHEEN, D., SO, W.Y., TAM, C.H.T., AFZAL, U., AGUILAR, D., ARYA, R., AUNG, T., CHAN, E., NAVARRO, C., CHENG, C.-Y., PALLI, D., CORREA, A., CURRAN, J.E., RYBIN, D., FAROOK, V.S., FOWLER, S.P.,

FREEDMAN, B.I., GRISWOLD, M., HALE, D.E., HICKS, P.J., KHOR, C.-C., KUMAR, S., LEHNE, B., THUILLIER, D., LIM, W.Y., LIU, J., VAN DER SCHOUW, Y.T., LOH, M., MUSANI, S.K., PUPPALA, S., SCOTT, W.R., YENGO, L., TAN, S.-T., TAYLOR, H.A., THAMEEM, F., WILSON, G., WONG, T.Y., NJØLSTAD, P.R., LEVY, J.C., MANGINO, M., BONNYCASTLE, L.L., SCHWARZMAYR, T., FADISTA, J., SURDULESCU, G.L., HERDER, C., GROVES, C.J., WIELAND, T., BORK-JENSEN, J., BRANDSLUND, I., CHRISTENSEN, C., KOISTINEN, H.A., DONEY, A.S.F., KINNUNEN, L., ESKO, T., FARMER, A.J., HAKASTE, L., HODGKISS, D., KRAVIC, J., LYSENKO, V., HOLLENSTED, M., JØRGENSEN, M.E., JØRGENSEN, T., LADENVALL, C., JUSTESEN, J.M., KÄRÄJÄMÄKI, A., KRIEBEL, J., RATHMANN, W., LANNFELT, L., LAURITZEN, T., NARISU, N., LINNEBERG, A., MELANDER, O., MILANI, L., NEVILLE, M., ORHO-MELANDER, M., QI, L., QI, Q., RODEN, M., ROLANDSSON, O., SWIFT, A., ROSENGREN, A.H., STIRRUPS, K., WOOD, A.R., MIHAILOV, E., BLANCHER, C., CARNEIRO, M.O., MAGUIRE, J., POPLIN, R., SHAKIR, K., FENNELL, T., DEPRISTO, M., HRABÉ DE ANGELIS, M., DELOUKAS, P., GJESING, A.P., JUN, G., NILSSON, P., MURPHY, J., ONOFRIO, R., THORAND, B., HANSEN, T., MEISINGER, C., HU, F.B., ISOMAA, B., KARPE, F., LIANG, L., PETERS, A., HUTH, C., O'RAHILLY, S.P., PALMER, C.N.A., PEDERSEN, O., RAURAMAA, R., TUOMILEHTO, J., SALOMAA, V., WATANABE, R.M., SYVÄNEN, A.-C., BERGMAN, R.N., BHARADWAJ, D., BOTTINGER, E.P., CHO, Y.S., CHANDAK, G.R., CHAN, J.C.N., CHIA, K.S., DALY, M.J., EBRAHIM, S.B., LANGENBERG, C., ELLIOTT, P., JABLONSKI, K.A., LEHMAN, D.M., JIA, W., MA, R.C.W., POLLIN, T.I., SANDHU, M., TANDON, N., FROGUEL, P., BARROSO, I., TEO, Y.Y., ZEGGINI, E., LOOS, R.J.F., SMALL, K.S., RIED, J.S., DEFRONZO, R.A., GRALLERT, H., GLASER, B., METSPALU, A., WAREHAM, N.J., WALKER, M., BANKS, E., GIEGER, C., INGELSSON, E., IM, H.K., ILLIG, T., FRANKS, P.W.,

BUCK, G., TRAKALO, J., BUCK, D., PROKOPENKO, I., MÄGI, R., LIND, L., FARJOUN, Y., OWEN, K.R., GLOYN, A.L., STRAUCH, K., TUOMI, T., KOONER, J.S., LEE, J.-Y., PARK, T., DONNELLY, P., MORRIS, A.D., HATTERSLEY, A.T., BOWDEN, D.W., COLLINS, F.S., ATZMON, G., CHAMBERS, J.C., SPECTOR, T.D., LAAKSO, M., STROM, T.M., BELL, G.I., BLANGERO, J., DUGGIRALA, R., TAI, E.S., MCVEAN, G., HANIS, C.L., WILSON, J.G., SEIELSTAD, M., FRAYLING, T.M., MEIGS, J.B., COX, N.J., SLADEK, R., LANDER, E.S., GABRIEL, S., BURTT, N.P., MOHLKE, K.L., MEITINGER, T., GROOP, L., ABECASIS, G., FLOREZ, J.C., SCOTT, L.J., MORRIS, A.P., KANG, H.M., BOEHNKE, M., ALTSHULER, D. y MCCARTHY, M.I., 2016. The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature* [en línea], vol. 536, no. 7614, pp. 41-47. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 0028-0836. DOI 10.1038/nature18642. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature18642>.

GREGG, E.W., BECKLES, G.L., WILLIAMSON, D.F., LEVEILLE, S.G., LANGLOIS, J.A., ENGELGAU, M.M. y NARAYAN, K.M., 2000. Diabetes and physical disability among older U.S. adults. *Diabetes Care* [en línea], vol. 23, no. 9, pp. 1272-1277. ISSN 0149-5992. DOI 10.2337/diacare.23.9.1272. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diacare.23.9.1272>.

HAFFNER, S.M. y AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2004. Dyslipidemia management in adults with diabetes. *Diabetes care* [en línea], vol. 27 Suppl 1, no. suppl 1, pp. S68-71. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 0149-5992. DOI 10.2337/DIACARE.27.2007.S68. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14693930>.

HANIS, C., BOERWINKLE, E., CHAKRABORTY, R., ELLSWORTH, D., CONCANNON, P., STIRLING, B., ... y SHEPHERD, J., 1996. A genome-wide search for human non-

insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nature genetics*, vol. 13, no. 2, pp. 161.

HERDER, C. y RODEN, M., 2011. Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance. *European Journal of Clinical Investigation* [en línea], vol. 41, no. 6, pp. 679-692. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 00142972. DOI 10.1111/j.1365-2362.2010.02454.x. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2362.2010.02454.x>.

HERMAN, W.H., YE, W., GRIFFIN, S.J., SIMMONS, R.K., DAVIES, M.J., KHUNTI, K., RUTTEN, G.E.H.M., SANDBAEK, A., LAURITZEN, T., BORCH-JOHNSSEN, K., BROWN, M.B. y WAREHAM, N.J., 2015. Early Detection and Treatment of Type 2 Diabetes Reduce Cardiovascular Morbidity and Mortality: A Simulation of the Results of the Anglo-Danish-Dutch Study of Intensive Treatment in People With Screen-Detected Diabetes in Primary Care (ADDITION-Europe). *Diabetes care* [en línea], vol. 38, no. 8, pp. 1449-55. [Consulta: 12 marzo 2019]. DOI 10.2337/dc14-2459. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25986661>.

HORIKAWA, Y., ODA, N., COX, N.J., LI, X., ORHO-MELANDER, M., HARA, M., HINOKIO, Y., LINDNER, T.H., MASHIMA, H., SCHWARZ, P.E., DEL BOSQUE-PLATA, L., HORIKAWA, Y., ODA, Y., YOSHIUCHI, I., COLILLA, S., POLONSKY, K.S., WEI, S., CONCANNON, P., IWASAKI, N., SCHULZE, J., BAIER, L.J., BOGARDUS, C., GROOP, L., BOERWINKLE, E., HANIS, C.L. y BELL, G.I., 2000. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nature genetics*, vol. 26, no. 2, pp. 163-175. ISSN 1061-4036. DOI 10.1038/79876.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017. *IDF Diabetes Atlas*. 8th. Brussels:

International Diabetes Federation.

KALYANI, R., SAUDEK, C., BRANCATI, F. y SELVIN, E., 2010. Association of diabetes, comorbidities, and A1C with functional disability in older adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 1999-2006. *Diabetes Care* [en línea], vol. 33, no. 5, pp. 1055-1060. ISSN 0149-5992. DOI 10.2337/dc09-1597. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=rzh&AN=105187758&site=ehost-live>.

KARAMBATAKI, M., MALOUSI, A. y KOUIDOU, S., 2014. Risk-associated coding synonymous SNPs in type 2 diabetes and neurodegenerative diseases: Genetic silence and the underrated association with splicing regulation and epigenetics. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [en línea], vol. 770, pp. 85-93. ISSN 09218262. DOI 10.1016/j.mrfmmm.2014.09.005. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2014.09.005>.

KARAMBATAKI, M., MALOUSI, A., TZIMAGIORGIS, G., HAITOGLU, C., FRAGOU, A., GEORGIOU, E., PAPADOPOULOU, F., KRASSAS, G.E. y KOUIDOU, S., 2017. Association of two synonymous splicing-associated CpG single nucleotide polymorphisms in calpain 10 and solute carrier family 2 member 2 with type 2 diabetes. *Biomedical Reports* [en línea], vol. 6, no. 2, pp. 146-158. ISSN 2049-9434. DOI 10.3892/br.2016.833. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/>.

KIM, H.K., PHAM, M.H.C., KO, K.S., RHEE, B.D. y HAN, J., 2018. Alternative splicing isoforms in health and disease. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* [en línea], vol. 470, no. 7, pp. 995-1016. ISSN 0031-6768. DOI 10.1007/s00424-018-2136-x. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00424-018-2136-x>.

- KONG, L., ZHU, J., HAN, W., JIANG, X., XU, M., ZHAO, Y., DONG, Q., PANG, Z., GUAN, Q., GAO, L., ZHAO, J., ZHAO, L., KONG, L., ZHU, J., HAN, W., JIANG, X., XU, M., ZHAO, Y., DONG, Q., PANG, Z., GUAN, Q., GAO, L., ZHAO, J. y ZHAO, L., 2011. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study. *Acta Diabetologica* [en línea], vol. 48, no. 1, pp. 61-69. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 0940-5429. DOI 10.1007/s00592-010-0226-0. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00592-010-0226-0>.
- LOVE, J.E., HAYDEN, E.J. y ROHN, T.T., 2015. Alternative Splicing in Alzheimer's Disease. *Journal of Parkinson's disease and Alzheimer's disease* [en línea], vol. 2, no. 2. ISSN 2376-922X. DOI 10.13188/2376-922X.1000010. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26942228>.
- LOYA MÉNDEZ, Y., REYES LEAL, G., SÁNCHEZ GONZÁLEZ, A., PORTILLO REYES, V., REYES RUVALCABA, D. y BOJÓRQUEZ RANGEL, G., 2015. *Variantes genotípicas del SNP -19 del gen de la CAPN 10 y su relación con la diabetes mellitus tipo 2 en una población de Ciudad Juárez, México* [en línea]. S.l.: Jarpyo Editores. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/3092/309233495027/>.
- LYSSENKO, V., JONSSON, A., ALMGREN, P., PULIZZI, N., ISOMAA, B., TUOMI, T., BERGLUND, G., ALTSHULER, D., NILSSON, P. y GROOP, L., 2008. Clinical Risk Factors, DNA Variants, and the Development of Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine* [en línea], vol. 359, no. 21, pp. 2220-2232. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 0028-4793. DOI 10.1056/NEJMoa0801869. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0801869>.
- MANCIA, G., 2005. The association of hypertension and diabetes: prevalence, cardiovascular risk and protection by blood pressure reduction. *Acta Diabetologica*

[en línea], vol. 42, no. S1, pp. s17-s25. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 0940-5429.

DOI 10.1007/s00592-005-0177-z. Disponible en:

<http://link.springer.com/10.1007/s00592-005-0177-z>.

MAYO CLINIC, 2019. Diabetes. *Mayo Foundation for Medical Education and Research* [en línea]. [Consulta: 12 marzo 2019]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/diabetes/symptoms-causes/syc-20371444>.

MEIGS, J.B., SHRADER, P., SULLIVAN, L.M., MCATEER, J.B., FOX, C.S., DUPUIS, J., MANNING, A.K., FLOREZ, J.C., WILSON, P.W.F., D'AGOSTINO, R.B. y CUPPLES, L.A., 2008. Genotype Score in Addition to Common Risk Factors for Prediction of Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine* [en línea], vol. 359, no. 21, pp. 2208-2219. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 0028-4793. DOI 10.1056/NEJMoa0804742. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0804742>.

NARAYAN, K.M. V, BOYLE, J.P., THOMPSON, T.J., GREGG, E.W. y WILLIAMSON, D.F., 2007. Effect of BMI on lifetime risk for diabetes in the U.S. *Diabetes care* [en línea], vol. 30, no. 6, pp. 1562-6. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 1935-5548. DOI 10.2337/dc06-2544. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17372155>.

NCD RISK FACTOR COLLABORATION, 2015. Effects of diabetes definition on global surveillance of diabetes prevalence and diagnosis: a pooled analysis of 96 population-based studies with 331 288 participants. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* [en línea], vol. 3, no. 8, pp. 624-637. [Consulta: 12 marzo 2019]. ISSN 2213-8587. DOI 10.1016/S2213-8587(15)00129-1. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213858715001291>.

OWCZARZY, R., TATAUROV, A. V., WU, Y., MANTHEY, J.A., MCQUISTEN, K.A.,

- ALMABRAZI, H.G., PEDERSEN, K.F., LIN, Y., GARRETSON, J., MCENTAGGART, N.O., SAILOR, C.A., DAWSON, R.B. y PEEK, A.S., 2008. IDT SciTools: a suite for analysis and design of nucleic acid oligomers. *Nucleic Acids Research* [en línea], vol. 36, no. Web Server, pp. W163-W169. [Consulta: 2 noviembre 2018]. ISSN 0305-1048. DOI 10.1093/nar/gkn198. Disponible en: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkn198>.
- PAREDES ANAYA, M., SOTO LIZARASO, F., ABANTO LISSÓN, R., RODRÍGUEZ, G., CALDERÓN, J.R., RODRÍGUEZ ZÁRATE, E., GARCÍA NORES, G. y FUJITA ALARCÓN, R., 2005. Variación y distribución genética de los SNP's 19, 43 Y 63 del gen de susceptibilidad de diabetes tipo 2 Calpain 10 (Capn10) en la población peruana. *Horizonte Médico* [en línea], vol. 5, no. 2. ISSN 1727-558X. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/3716/371637113001/>.
- PAREDES, M., LIZARASO, F., LISSÓN, R., GIOVANNA RODRÍGUEZ, E., CALDERÓN, J. y HUAPAYA, J., 2010. Asociación del SNP19 del gen « calpaína 10 » a diabetes mellitus tipo 2 y factores de riesgo en población peruana. *Avances en Diabetología* [en línea], vol. 26, no. 3, pp. 184-188. ISSN 1134-3230. DOI 10.1016/S1134-3230(10)63010-4. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1134323010630104>.
- PORTE, D. y SCHWARTZ, M.W., 1996. Diabetes Complications--Why Is Glucose Potentially Toxic? *Science*, vol. 272, no. 5262, pp. 699. DOI 10.1126/science.272.5262.699.
- PRAJAPAT, R. y BHATTACHARYA, I., 2016. In Silico Structure Analysis of Type 2 Diabetes Associated Cysteine Protease Calpain-10 (CAPN10). *Advances in Diabetes and Metabolism* [en línea], vol. 4, no. 2, pp. 32-43. DOI 10.13189/adm.2016.040202.

Disponible en: <http://www.hrpub.org>.

R CORE TEAM, 2018. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing [en línea]. 2018. Vienna: s.n. Disponible en: <https://www.r-project.org>.

RICH, S.S., 2016. Diabetes: Still a geneticist's nightmare. *Nature* [en línea], vol. 536, no. 7614, pp. 37-38. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 0028-0836. DOI 10.1038/nature18906. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature18906>.

RYAN, C.M., VAN DUINKERKEN, E. y ROSANO, C., 2016. Neurocognitive consequences of diabetes. *American Psychologist* [en línea], vol. 71, no. 7, pp. 563-576. [Consulta: 12 marzo 2019]. ISSN 1935-990X. DOI 10.1037/a0040455. Disponible en: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/a0040455>.

SCHWARZ, P., LI, J., LINDSTROM, J. y TUOMILEHTO, J., 2009. Tools for Predicting the Risk of Type 2 Diabetes in Daily Practice. *Hormone and Metabolic Research* [en línea], vol. 41, no. 02, pp. 86-97. [Consulta: 7 septiembre 2019]. ISSN 0018-5043. DOI 10.1055/s-0028-1087203. Disponible en: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0028-1087203>.

SECLÉN, S., 2015. Diabetes Mellitus en el Perú: hacia dónde vamos. *Revista Médica Herediana* [en línea], vol. 25, pp. 3-4. ISSN 1729-214X. DOI 10.20453/rmh.v27i4.2992. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2015000100001&script=sci_arttext&tlng=pt%0Ahttp://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/RMH/article/view/2371/2328.

SHARMA, R., MATHAROO, K., KAPOOR, R., CHOPRA, H. y BHANWER, A.J.S., 2013.

Ethnic differences in CAPN10 SNP-19 in type 2 diabetes : a North-West Indian case-control study and evidence from meta-analysis. *Genet. Res.*, vol. 95, pp. 146-155. DOI 10.1017/S0016672313000207.

SIMON, D., 2010. Epidemiological features of type 2 diabetes. *La Revue du praticien* [en línea], vol. 60, no. 4, pp. 469-73. [Consulta: 12 marzo 2019]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20465117>.

SOLE, X., GUINO, E., VALLS, J., INIESTA, R. y MORENO, V., 2006. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* [en línea], vol. 22, no. 15, pp. 1928-1929. ISSN 1367-4803. DOI 10.1093/bioinformatics/btl268. Disponible en: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btl268>.

SONG, Y., NIU, T., MANSON, J.E., KWIATKOWSKI, D.J. y LIU, S., 2004. Are Variants in the CAPN10 Gene Related to Risk of Type 2 Diabetes? A Quantitative Assessment of Population and Family-Based Association Studies. *The American Journal of Human Genetics* [en línea], vol. 74, no. 2, pp. 208-222. [Consulta: 14 marzo 2019]. ISSN 0002-9297. DOI 10.1086/381400. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002929707618321>.

SONG, Y., YOU, N. -c., HSU, Y.-H., SUL, J., WANG, L., TINKER, L., EATON, C.B. y LIU, S., 2007. Common genetic variation in calpain-10 gene (CAPN10) and diabetes risk in a multi-ethnic cohort of American postmenopausal women. *Human Molecular Genetics* [en línea], vol. 16, no. 23, pp. 2960-2971. [Consulta: 16 marzo 2019]. ISSN 0964-6906. DOI 10.1093/hmg/ddm256. Disponible en: <https://academic.oup.com/hmg/article-lookup/doi/10.1093/hmg/ddm256>.

SORAN, H., SCHOFIELD, J.D., ADAM, S. y DURRINGTON, P.N., 2016. Diabetic

dyslipidaemia. *Current Opinion in Lipidology* [en línea], vol. 27, no. 4, pp. 313-322. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 0957-9672. DOI 10.1097/MOL.0000000000000318. Disponible en: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00041433-201608000-00002>.

SORIMACHI, H. y SUZUKI, K., 2001. JB Review The Structure of Calpain. *Journal of Biochemistry*, vol. 129, pp. 653-664.

SOTO, A. y BURSTEIN, Z., 2016. Salud pública e investigación: la agenda pendiente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, vol. 33, no. 3, pp. 399-400.

TALMUD, P.J., COOPER, J.A., MORRIS, R.W., DUDBRIDGE, F., SHAH, T., ENGMANN, J., DALE, C., WHITE, J., MCLACHLAN, S., ZABANEH, D., WONG, A., ONG, K.K., GAUNT, T., HOLMES, M. V, LAWLOR, D.A., RICHARDS, M., HARDY, R., KUH, D., WAREHAM, N., LANGENBERG, C., BEN-SHLOMO, Y., WANNAMETHEE, S.G., STRACHAN, M.W.J., KUMARI, M., WHITTAKER, J.C., DRENOS, F., KIVIMAKI, M., HINGORANI, A.D., PRICE, J.F., HUMPHRIES, S.E. y UCLEB CONSORTIUM, 2015. Sixty-five common genetic variants and prediction of type 2 diabetes. *Diabetes* [en línea], vol. 64, no. 5, pp. 1830-40. [Consulta: 13 marzo 2019]. ISSN 1939-327X. DOI 10.2337/db14-1504. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25475436>.

TKÁČ, I., JAVORSKÝ, M., KLIMČÁKOVÁ, L., ŽIDZIK, J., GALA, I., BABJAKOVÁ, E., SCHRÖNER, Z., ŠTOLFOVÁ, M., HERMANOVÁ, H. y HABALOVÁ, V., 2014. A pharmacogenetic association between a variation in calpain 10 (CAPN10) gene and the response to metformin treatment in patients with type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Pharmacology* [en línea], vol. 71, pp. 59-63. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00228-014-1774-y.pdf>.

TRAUTNER, C., HAASTERT, B., GIANI, G. y BERGER, M., 1996. Incidence of lower limb amputations and diabetes. *Diabetes care* [en línea], vol. 19, no. 9, pp. 1006-9. [Consulta: 12 marzo 2019]. ISSN 0149-5992. DOI 10.2337/DIACARE.19.9.1006. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8875099>.

TUOMILEHTO, J., LINDSTRÖM, J., ERIKSSON, J.G., VALLE, T.T., HÄMÄLÄINEN, H., ILANNE-PARIKKA, P., KEINÄNEN-KIUKAANNIEMI, S., LAAKSO, M., LOUHERANTA, A., RASTAS, M., SALMINEN, V. y UUSITUPA, M., 2001. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*, vol. 344, no. 18, pp. 1343-1350. ISSN 0028-4793. DOI 10.1056/NEJM200105033441801.

TURNER, M.D., CASSELL, P.G. y HITMAN, G.A., 2005. Calpain-10: From genome search to function. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, vol. 21, no. 6, pp. 505-514. ISSN 15207552. DOI 10.1002/dmrr.578.

VASSY, J.L., HIVERT, M.-F., PORNEALA, B., DAURIZ, M., FLOREZ, J.C., DUPUIS, J., SISCOVICK, D.S., FORNAGE, M., RASMUSSEN-TORVIK, L.J., BOUCHARD, C. y MEIGS, J.B., 2014. Polygenic type 2 diabetes prediction at the limit of common variant detection. *Diabetes* [en línea], vol. 63, no. 6, pp. 2172-82. ISSN 1939-327X. DOI 10.2337/db13-1663. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24520119>.

VAZQUEZ, G., DUVAL, S., JACOBS, D.R. y SILVENTOINEN, K., 2007. Comparison of Body Mass Index, Waist Circumference, and Waist/Hip Ratio in Predicting Incident Diabetes: A Meta-Analysis. *Epidemiologic Reviews* [en línea], vol. 29, no. 1, pp. 115-128. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 0193-936X. DOI 10.1093/epirev/mxm008.

Disponible en: <https://academic.oup.com/epirev/article-lookup/doi/10.1093/epirev/mxm008>.

VILLENA J., 2015. Diabetes Mellitus in Peru. *Annals of Global Health* [en línea], vol. 81, no. 6, pp. 765-775. [Consulta: 8 septiembre 2018]. ISSN 22149996. DOI 10.1016/j.aogh.2015.12.018. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27108144>.

VILLENA J., 2016. Epidemiología de la Diabetes Mellitus en el Perú. *Diagnóstico* [en línea], vol. 55, no. 4, pp. 173-181. Disponible en: <http://www.fihu-diagnostico.org.pe/wp-content/uploads/2017/06/Artículo-Epidemiología-de-la-Diabetes-en-el-Perú.pdf>.

WALFORD, G.A., PORNEALA, B.C., DAURIZ, M., VASSY, J.L., CHENG, S., RHEE, E.P., WANG, T.J., MEIGS, J.B., GERSZTEN, R.E. y FLOREZ, J.C., 2014. Metabolite traits and genetic risk provide complementary information for the prediction of future type 2 diabetes. *Diabetes care* [en línea], vol. 37, no. 9, pp. 2508-14. ISSN 1935-5548. DOI 10.2337/dc14-0560. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24947790>.

WANG, X., STRIZICH, G., HU, Y., WANG, T., KAPLAN, R.C. y QI, Q., 2016. Genetic markers of type 2 diabetes: Progress in genome-wide association studies and clinical application for risk prediction. *Journal of Diabetes* [en línea], vol. 8, no. 1, pp. 24-35. ISSN 17530393. DOI 10.1111/1753-0407.12323. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/1753-0407.12323>.

WEEDON, M.N., SCHWARZ, P.E.H., HORIKAWA, Y., IWASAKI, N., ILLIG, T., HOLLE, R., RATHMANN, W., SELISKO, T., SCHULZE, J., OWEN, K.R., EVANS, J., DEL BOSQUE-PLATA, L., HITMAN, G., WALKER, M., LEVY, J.C., SAMPSON, M., BELL, G.I., MCCARTHY, M.I., HATTERSLEY, A.T. y FRAYLING, T.M., 2003. Meta-analysis

and a large association study confirm a role for calpain-10 variation in type 2 diabetes susceptibility. *American journal of human genetics* [en línea], vol. 73, no. 5, pp. 1208-12. [Consulta: 26 mayo 2018]. ISSN 0002-9297. DOI 10.1086/379285. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14574648>.

WEI, M., GASKILL, S.P., HAFFNER, S.M. y STERN, M.P., 1997. Waist Circumference as the Best Predictor of Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) Compared to Body Mass Index, Waist/hip Ratio and Other Anthropometric Measurements in Mexican Americans-A 7-Year Prospective Study. *Obesity Research* [en línea], vol. 5, no. 1, pp. 16-23. [Consulta: 17 marzo 2019]. ISSN 10717323. DOI 10.1002/j.1550-8528.1997.tb00278.x. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/j.1550-8528.1997.tb00278.x>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011. *Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus: abbreviated report of a WHO consultation* [en línea]. Geneva: World Health Organization. [Consulta: 17 marzo 2019]. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/70523>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016. *Global report on diabetes*. France: World Health Organization. ISBN 978 92 4 156525 7.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018. *Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016*. Geneva: s.n.

WORLD HEALTH ORGANIZATION y INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2006. *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia : report of a WHO/IDF consultation* [en línea]. Geneva : World Health Organization. [Consulta: 12 marzo 2019]. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/43588>.

YAN, S.-T., LI, C.-L., TIAN, H., LI, J., PEI, Y., LIU, Y., GONG, Y.-P., FANG, F.-S. y SUN, B.-R., 2014. Association of calpain-10 rs2975760 polymorphism with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine* [en línea], vol. 7, no. 10, pp. 3800-7. ISSN 1940-5901. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25419435>.

YATES, A., AKANNI, W., AMODE, M.R., BARRELL, D., BILLIS, K., CARVALHO-SILVA, D., CUMMINS, C., CLAPHAM, P., FITZGERALD, S., GIL, L., GIRÓN, C.G., GORDON, L., HOURLIER, T., HUNT, S.E., JANACEK, S.H., JOHNSON, N., JUETTEMANN, T., KEENAN, S., LAVIDAS, I., MARTIN, F.J., MAUREL, T., MCLAREN, W., MURPHY, D.N., NAG, R., NUHN, M., PARKER, A., PATRICIO, M., PIGNATELLI, M., RAHTZ, M., RIAT, H.S., SHEPPARD, D., TAYLOR, K., THORMANN, A., VULLO, A., WILDER, S.P., ZADISSA, A., BIRNEY, E., HARROW, J., MUFFATO, M., PERRY, E., RUFFIER, M., SPUDICH, G., TREVANION, S.J., CUNNINGHAM, F., AKEN, B.L., ZERBINO, D.R. y FLICEK, P., 2016. Ensembl 2016. *Nucleic Acids Research* [en línea], vol. 44, no. D1, pp. D710-D716. [Consulta: 2 noviembre 2018]. ISSN 0305-1048. DOI 10.1093/nar/gkv1157. Disponible en: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkv1157>.

ZHANG, R.-Y., BAI, J.-L., YI, H.-G., ZHAO, Y., LIN, Y., ZHANG, T.-M. y CHEN, F., 2009. Association between calpain-10 gene polymorphism and risk of type 2 diabetes mellitus: a meta analysis. *Zhonghua liu xing bing xue za zhi = Zhonghua liuxingbingxue zazhi* [en línea], vol. 30, no. 8, pp. 850-6. ISSN 0254-6450. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20193213>.

ZHENG, Y., LEY, S.H. y HU, F.B., 2018. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology* [en línea], vol. 14, no. 2, pp. 88-98. [Consulta: 12 marzo 2019]. ISSN 1759-5029. DOI

10.1038/nrendo.2017.151.

Disponibile

en:

[http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrendo.2017.151.](http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrendo.2017.151)